

# Pendekatan Bioteknologi dan Genomika untuk Perbaikan Genetik Tanaman Jarak Pagar sebagai Penghasil Bahan Bakar Nabati

## (Biotechnology and Genomic Approaches for Genetic Improvement of Physic Nut as a Bioenergy Crop)

I Made Tasma

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111 Indonesia  
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; E-mail: imade.tasma@gmail.com

Diajukan: 12 Juni 2017; Direvisi: 18 September 2017; Diterima: 20 November 2017

### ABSTRACT

Physic nut (*Jatropha curcas* L.) is an oil-bearing crop whose oil can be used as diesel substitution. This crop can be grown at suboptimal soils and thus attracts many people to explore its potential as a biorenewable energy crop. Many constraints, however, are faced by this crop. From plant material and cultivation aspects, not much information has yet been known regarding this crop. In addition, people still view physic nut as an incomplete domesticated crop as indicated by the fact that many *J. curcas* accessions of the world still have toxic in their seeds causing the protein-rich seeds can not directly be used as animal feed. *J. curcas* demonstrates continuous fruiting habit during its fruiting season and hence no uniform fruit maturity causing expensive harvesting cost. The female and male flower ratio is low causing lower seed productivity. *J. curcas* oil is relatively rich with poly unsaturated fatty acids that need to be decreased to improve diesel quality. Genomic knowledge to understand *J. curcas* genes and function is critical to manipulate *J. curcas* genetics systematically. Genetic transformation technology is potentially applied for better plant architecture, improvement of agronomically important characters, seed and oil yield, and quality traits. The objective of this manuscript was to review biotechnology and genomic approaches for genetic improvement of *J. curcas* plant materials. The biotechnological method application should expedite *J. curcas* breeding programs. With superior planting materials, the *J. curcas* should be able to be cultivated economically and resulting better *J. curcas* oil suitable for biodiesel industry.

**Keywords:** *Jatropha curcas*, genomics, gene and QTL, genetic transformation, marker-assisted breeding.

### ABSTRAK

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan tanaman penghasil minyak nabati yang dapat digunakan sebagai pengganti minyak diesel. Tanaman yang dapat tumbuh pada kondisi lahan kurang subur ini menarik minat banyak pihak untuk mengeksplorasi potensinya sebagai tanaman sumber energi yang ramah lingkungan. Namun, masih banyak kendala yang dihadapi dalam pembudidayaannya supaya dapat diusahakan secara ekonomis. Dari aspek bahan tanaman dan budi daya, saat ini tanaman jarak pagar masih belum banyak diketahui. Bahkan, jarak pagar masih dianggap sebagai tanaman yang belum didomestikasi secara penuh seperti ditunjukkan oleh fakta bahwa sebagian besar genotipe jarak pagar di dunia bijinya toksik sehingga ampas bijinya yang kaya protein tidak dapat langsung digunakan sebagai pakan ternak. Kematangan buah tanaman ini tidak serempak yang menyebabkan biaya panen tinggi. Rasio bunga betina dan bunga jantan yang rendah menyebabkan produktivitas bijinya rendah. Biji jarak pagar mengandung asam lemak poli tidak jenuh yang konsentrasinya perlu diturunkan untuk meningkatkan mutu minyak diesel. Pengetahuan genomika memungkinkan untuk mengetahui komposisi genom, komposisi dan fungsi gen, dan pemetaan genetik (gen/QTL) unggul jarak pagar. Pemahaman ini diperlukan agar genetika tanaman jarak pagar dapat dimanipulasi secara sistematis. Teknologi rekayasa genetika potensial diaplikasikan untuk perbaikan: arsitektur tanaman, karakter agronomis, kualitas biji, produktivitas, dan kualitas minyak. Tujuan tulisan ini ialah mengulas tentang pendekatan bioteknologi dan genomika untuk perbaikan genetik tanaman jarak pagar. Aplikasi bioteknologi memungkinkan untuk mempercepat program pemuliaan tanaman jarak pagar. Dengan bahan tanaman unggul, jarak pagar dapat dibudidayakan sehingga bermanfaat secara ekonomis dengan mutu minyak yang cocok sebagai bahan baku biodiesel.

**Kata kunci:** *Jatropha curcas*, genomika, gen dan QTL, transformasi genetik, pemuliaan berbantuan marka.

## PENDAHULUAN

Jarak pagar (*Jatopha curcas* L). merupakan tanaman multifungsi yang dapat digunakan sebagai tanaman obat, tanaman konservasi dan pagar hidup, dan penghasil minyak nabati (Heller 1996; Openshaw 2000). Biji jarak pagar mengandung 30–40% minyak (Giibitz et al. 1999) yang mempunyai karakteristik seperti minyak diesel dan pembakaran minyak jarak pagar lebih sempurna dibanding dengan minyak diesel fosil sehingga lebih ramah lingkungan (Heller 1996). Minyak jarak pagar umumnya tidak dikonsumsi manusia sebagai bahan makanan (*nonedible*) sehingga penggunaannya sebagai bahan bakar tidak berkompetisi dengan konsumsi manusia. Hal ini berbeda dengan minyak nabati lainnya, seperti minyak kelapa sawit, minyak kedelai, jagung, kanola, dan bunga matahari yang umumnya digunakan sebagai produk makanan sehingga penggunaannya sebagai biodiesel harus berkompetisi dengan industri pangan. Dari segi kualitasnya, minyak biji jarak pagar juga cocok untuk digunakan dalam produksi biodiesel karena mengandung lebih dari 70% asam lemak tidak jenuh, walaupun dalam konsentrasi tertentu minyak jarak pagar masih mengandung asam lemak tidak jenuh poli (Biello 2009).

Kecenderungan berkurangnya sumber sumur minyak fosil memerlukan pencarian alternatif baru untuk mendapatkan sumber energi lain yang sedapat mungkin terbarukan. Sumber energi terbarukan antara lain minyak nabati. Dengan fenomena pemanasan global, pemanfaatan energi dari minyak nabati merupakan salah satu pilihan untuk menurunkan emisi gas rumah kaca (Dias et al. 2012; Knothe 2008). Di antara tanaman yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai sumber energi terbarukan adalah jagung, tebu, kelapa sawit, kemiri sunan, dan jarak pagar. Jarak pagar menarik minat banyak peneliti bioenergi di dunia karena tanaman ini dinilai relatif mudah beradaptasi pada lingkungan kering dan marginal, di samping kegunaannya sebagai pengendali erosi (Heller 1996; Krishnamurthy et al. 2012). Namun, masih terdapat kendala dalam budi daya tanaman ini karena bahan tanam unggulnya masih belum banyak diketahui dan kurangnya informasi teknik budi daya. Fakta menunjukkan bahwa jarak pagar merupakan tanaman yang masih belum didomestikasi secara penuh mengingat sebagian besar aksesori jarak pagar di dunia masih toksik (Montes et al. 2014) sehingga bungkil bijinya yang kaya protein tidak dapat langsung digunakan sebagai pakan ternak. Berbagai usaha ekstra masih diperlukan untuk dapat menghasilkan bahan tanaman unggul yang dapat dibudidayakan secara ekonomis dengan produktivitas minyak tinggi

dan kompetitif untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Peranan bioteknologi (genomika, rekayasa genetika, dan perbanyakan *in vitro*) dalam memecahkan masalah bahan tanaman unggul jarak pagar sangat jelas dalam mempercepat siklus pemuliaan, perbanyakan klon unggul secara massal, transformasi genetik, dan pemanfaatan diversitas genetik secara komprehensif pada program pemuliaan sehingga diperoleh varietas unggul dengan produktivitas dan nilai tambah tinggi, ekonomis untuk dibudidayakan dan minyaknya sesuai sebagai bahan baku biodiesel. Perkembangan teknologi terkini yang meliputi: studi genetika, genomika, perbanyakan *in vitro*, dan transformasi genetik tanaman jarak pagar akhir-akhir ini berkembang cukup pesat (Biabani et al. 2012; Montes et al. 2014; Sujatha et al. 2008; Wu et al. 2015). Tujuan tulisan ini ialah mengulas tentang pendekatan bioteknologi dan genomika untuk perbaikan genetik tanaman jarak pagar. Ulasan didasarkan pada hasil-hasil penelitian global yang meliputi (1) asal usul penyebaran dan aspek botani tanaman jarak pagar, (2) karakterisasi sumber daya genetik (SDG) jarak pagar dan identifikasi gen/QTL karakter unggul, (3) perkembangan teknologi genomika tanaman jarak pagar, (4) aplikasi teknologi rekayasa genetika pada tanaman jarak pagar, dan (5) perspektif perbaikan genetik tanaman jarak pagar dengan metode pemuliaan berbasis bioteknologi.

## ASAL USUL PENYEBARAN DAN ASPEK BOTANI TANAMAN JARAK PAGAR

### Asal Usul dan Penyebaran

Jarak pagar berasal dari Amerika Tengah seperti Meksiko yang menyebar ke belahan dunia lainnya, seperti Asia dan Afrika, melalui pelaut-pelaut Portugis. Pusat jarak pagar diperkirakan berada di Meksiko dan negara-negara Amerika Tengah, tetapi pusat diversitas yang tepat (*true center of origin*) dapat dikonfirmasi dengan teknik molekuler (Heller 1996). Pusat koleksi plasma nutfah jarak pagar dengan jumlah aksesori relatif terbatas tersebar di beberapa negara, seperti Kosta Rika, Burkina Faso, India, Cape Verde, Thailand, dan Indonesia (Hartati 2008; Hasnam 2006; Heller 1996). Koleksi tanaman kerabat liar (*wild relative*) jarak pagar juga tersedia di negara-negara Amerika tropis, Afrika, dan Asia Tenggara (Dehgan, 1984; Dehgan dan Webster 1979; Heller 1996).

Tanaman jarak pagar diintroduksi ke berbagai negara tropis dan subtropis yang umumnya ditanam sebagai tanaman pagar untuk kegunaan tradisional seperti obat tradisional dan tujuan konservasi (Fukuhara et al. 2016; Heller 1996). Tanaman ini

diperkirakan masuk ke Indonesia pada abad ke-17 yang hingga abad ke-18 disebarkan oleh pelaut-pelaut Portugis dan Spanyol (Hasnam 2006). Variasi genetik yang terdapat di Indonesia dan juga di belahan bumi lainnya diduga terjadi karena perbedaan lingkungan tumbuh yang menghasilkan ekotipe-ekotipe baru yang menyebar di seluruh negeri. Ekotipe-ekotipe ini kemudian dapat menyerbuk silang satu dengan lainnya dengan bantuan serangga penyerbuk (polinator).

Pada tahun 2005, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan (Puslitbangun), Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan), Kementerian Pertanian (Kementan) telah mengoleksi 50 aksesori jarak pagar yang berasal dari berbagai daerah di Indonesia (Hartati 2008; Hasnam 2006; Satyawati dan Tasma 2011a). Aksesori-aksesori jarak pagar tersebut diambil dari tiga kelompok iklim yang berbeda yang meliputi daerah dengan iklim basah, iklim kering, dan iklim sangat kering. Koleksi plasma nutfah jarak pagar ini ditanam di tiga kebun percobaan (KP), yaitu Pakuwon, Jawa Barat (iklim basah); Muktiharjo, Jawa Tengah (iklim sedang); Asembagus, Jawa Timur (iklim kering). Plasma nutfah jarak pagar ini telah dikoleksi, antara lain dari Provinsi Sumatra Barat, Lampung, Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa Tenggara Timur (Satyawati dan Tasma 2011a, 2011b). Koleksi ini telah digunakan sebagai sumber diversitas untuk materi pemuliaan daya hasil tinggi menggunakan metode *recurrent selection*. Sampai saat ini, tiga *improved population* (IP) telah dihasilkan, yaitu IP1-P dan IP2-P (dikembangkan di KP Pakuwon); IP1-A dan IP2-A (dikembangkan di KP Asembagus); IP1-M dan IP2-M (dikembangkan di KP Muktiharjo), dengan proyeksi daya hasil 5–7 t/ha biji kering pada umur 5 tahun (Hartati 2008; Hasnam 2006).

### Aspek Botani

Jarak pagar merupakan tanaman tahunan yang termasuk ke dalam famili Euphorbiaceae yang dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Contran et al. 2013; Fukuhara et al. 2016). Famili Euphorbiaceae terdiri atas tiga subfamili, yaitu Acalyphoideae, Crotonoideae, dan Euphorbioideae (Wurdack et al. 2005). *Jatropha* termasuk ke dalam genus besar yang beranggotakan sekitar 175 spesies (Deore dan Johnson 2008). Lima spesies *Jatropha* dilaporkan telah ada di Indonesia (Hasnam 2006). Spesies tersebut di antaranya *J. curcas* L. dan *J. gossypifolia* yang umumnya digunakan sebagai tanaman obat, *J. integerrima* Jacq., *J. multifida*, dan *J. podagrica* Hook yang umumnya digunakan sebagai tanaman hias.

Kerabat terdekat *J. curcas* pada famili Euphorbiaceae termasuk spesies tanaman penting, seperti jarak kepyar (*castor bean*) dan singkong (Dehgan dan Webster 1978; Dias et al. 2012).

Jarak pagar memiliki ukuran genom relatif kecil dengan kandungan DNA diploid (2C)  $0,850 \pm 0,0006$  pg atau ukuran genom haploid 0,416 Gb yang tersusun pada 22 kromosom (Carvalho et al. 2008). Ukuran genom ini relatif kecil dibanding dengan ukuran genom tanaman penghasil minyak nabati lainnya, seperti kelapa sawit (1,8 Gb) (Singh et al. 2013), jagung (3,5 Gb) (Schnable et al. 2009); kedelai (1,1 Gb) (Schmutz et al. 2010). Ukuran genom yang relatif kecil ini memudahkan peneliti genomika dalam menyusun urutan basa genom rujukan jarak pagar.

Kebanyakan anggota genus *Jatropha* mempunyai jumlah kromosom  $2n = 44$  (Dehgan and Schutman 1994; Fukuhara et al. 2016). *J. curcas* sendiri dilaporkan terdiri atas dua kelompok, yaitu  $2n = 22$  dan  $2n = 44$  berturut-turut untuk genom diploid dan tetraploid. Berdasarkan konfigurasi kromosomnya pada saat meiosis, *J. curcas*, *J. multifida*, dan *J. gossypifolia* kelihatannya berkerabat dekat, akan tetapi Dehgan dan Schutman (1994) mengelompokkan ketiga spesies tersebut pada kelompok yang berbeda, yaitu subgenus *Jatropha* dan *Curcas*.

Arsitektur keragaan tanaman jarak pagar di lapang sangat bervariasi, yaitu batangnya dapat bercabang, baik tunggal maupun bercabang banyak, tipe pertumbuhan dapat seperti tanaman perdu ataupun menyerupai pertumbuhan pohon (Sunil et al. 2013). Kemampuan tumbuh dan dapat beradaptasi baik pada berbagai kondisi lahan membuat tanaman ini dapat digunakan untuk mencegah erosi tanah dan menjaga konservasi air (Krishnamurthy et al. 2012).

Jarak pagar termasuk ke dalam tanaman berumah satu (*monoecious*), yaitu bunga jantan dan bunga betina terdapat pada bunga berbeda dalam satu tandan bunga (Heller 1996). Tanaman jarak pagar memiliki rasio bunga betina dan bunga jantan pada satu tandan bunga yang rendah, waktu panen juga tidak serempak, dan arsitektur tanaman yang tinggi dengan jumlah cabang banyak (Hasnam 2006; Heller 1996; Martin dan Montes 2015). Saat ini, belum ada varietas dengan karakter rasio bunga betina dan bunga jantan yang tinggi, panen buah yang serempak, dan arsitektur tanaman pendek dengan jumlah cabang sedikit. Kondisi tersebut menyebabkan produktivitas biji rendah dan biaya panen mahal sehingga tanaman jarak pagar kurang ekonomis untuk dibudidayakan pada skala luas. Tingkat penyerbukan sendiri tanaman ini diperkirakan juga tinggi sebagai akibat ketersediaan tepung sari secara berkesinam-

bungan untuk penyerbukan bunga-bunga betina pada tandan bunga yang sama. Tanaman mulai berproduksi pada tahun kedua dan produksinya mulai stabil pada tahun keempat (Sujatha et al. 2005).

Minyak jarak pagar memiliki kandungan asam lemak mirip dengan kandungan asam lemak minyak makan, seperti minyak kelapa sawit, jagung, dan kedelai (Giibitz et al. 1999). Minyak jarak pagar mengandung asam oleat (*oleic acids*) dan asam linolenat (*linolenic acids*) secara bersama-sama merupakan 80% kandungan asam lemak. Asam lemak lainnya, yaitu asam stearat (*stearic acids*) dan asam palmitat (*palmitic acids*). Heller (1996) melaporkan bahwa kadar minyak biji jarak pagar yang diambil dari sepuluh sumber yang berbeda dari berbagai belahan dunia, antara 28,4–42,3%. Namun, kandungan minyak sampai dengan 60% juga telah dilaporkan (Sujatha et al. 2005).

### Sistem Reproduksi dan Teknik Pemuliaan

Jarak pagar merupakan tanaman menyerbuk silang dan dapat diperbanyak dengan stek sehingga perbanyakan vegetatif menjadi pilihan pada perbanyakan klon unggul agar produktivitas progeni menyamai produktivitas induknya. Namun, saat ini jarak pagar umumnya diperbanyak menggunakan biji sehingga kandungan minyak individu pertanaman yang dihasilkan dapat bervariasi, antara 4–40% (Jha et al. 2007). Viabilitas dan daya kecambah benih jarak pagar biasanya agak rendah, di samping seleksi benih yang menyita waktu sehingga perbanyakan dengan benih tidak dapat menjamin untuk mendapatkan pertanaman yang baik di lapangan. Metode perbanyakan dengan teknik kultur *in vitro* diarahkan untuk memperbanyak klon unggul terpilih secara massal untuk pertanaman di lapangan. Metode perbanyakan secara *in vitro* juga merupakan langkah awal yang sering mutlak diperlukan dalam studi rekayasa genetika tanaman untuk mentransformasi gen dengan karakter target untuk perbaikan bahan tanaman jarak pagar. Sel tanaman yang telah ditransformasi dengan gen target harus dapat diregenerasi untuk menghasilkan tanaman baru yang telah mengandung gen tersebut.

Teknik perbanyakan jarak pagar melalui kultur *in vitro* telah dimulai pada tahun sembilan puluhan menggunakan eksplan hipokotil, petiol, dan *leaf disc* dengan mengaplikasikan berbagai kombinasi media dan zat pengatur tumbuh (Dewi et al. 2012; Sujatha 1996; Sujatha dan Mukta 1996), termasuk juga metode perbanyakan *in vitro* jarak pagar nontoksik (Sujatha et al. 2005, 2008). Perbanyakan jarak pagar *in vitro* menggunakan metode yang lebih sederhana dengan frekuensi keberhasilan yang lebih tinggi dan *reproducible* juga telah dilaporkan, yaitu menginduksi

tunas adventif dan regenerasi tanaman jarak pagar dengan kultur *leaf disc* (Deore dan Johnson 2008).

Dari aspek perbanyakan tanaman (*mode of reproduction*), salah satu kelebihan jarak pagar adalah tanaman ini dapat diperbanyak secara vegetatif (*clonally propagated*) dan dengan biji. Dengan kelebihan ini, tiga dari empat teknik pemuliaan tanaman, yaitu pemuliaan klonal (*clonal breeding*), pemuliaan populasi (*population breeding*), dan pemuliaan hibrida (*hybrid breeding*) dapat diterapkan pada tanaman jarak pagar (Sun et al. 2012). Hanya metode pemuliaan galur (*line breeding*) yang tidak dapat diaplikasikan pada jarak pagar karena tanaman ini menyerbuk silang. Dengan berkembangnya teknologi DNA, ketiga metode pemuliaan tersebut perlu dilengkapi dengan teknik pemuliaan modern, seperti metode *recurrent backcrossing*, *marker-assisted selection* (MAS), *genomic selection* (GS), pemuliaan mutasi, dan rekayasa genetika untuk mengaplikasikan program pemuliaan terintegrasi dengan peluang keberhasilan yang lebih tinggi.

### KARAKTERISASI SDG JARAK PAGAR DAN IDENTIFIKASI GEN/QTL KARAKTER UNGGUL

#### Diversitas Genetik Aksesori Jarak Pagar

Studi diversitas genetik merupakan langkah awal untuk mengarakterisasi berbagai aksesori SDG jarak pagar. Saat ini, setidaknya ada dua *germplasm pool* jarak pagar yang telah dilaporkan, yaitu *germplasm pool* dengan biji nontoksik yang tidak mengandung senyawa *phorbol ester* (PE) dan *germplasm pool* dengan biji toksik yang mengandung PE (Montes et al. 2014). Aksesori SDG nontoksik ini berasal dari Meksiko yang merupakan sumber daya pemuliaan penting untuk perakitan varietas yang produk sampingnya diarahkan sebagai penghasil bungkil jarak pagar untuk pakan ternak. Aksesori jarak pagar nontoksik sampai saat ini belum ada di Indonesia sehingga introduksi aksesori jarak pagar nontoksik ini perlu dilakukan (Hasnam 2006; Satyawati dan Tasma 2011b).

Analisis diversitas genetik menggunakan marka DNA, seperti *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD), *interspersed simple sequence repeat* (ISSR), *amplified fragment length polymorphism* (AFLP), dan *simple sequence repeat* (SSR) menunjukkan bahwa benih varietas jarak pagar komersial di dunia umumnya dirakit dari materi genetik dengan diversitas yang sempit yang didemonstrasikan oleh variasi genetik yang rendah, baik di dalam maupun antaraksesori (Ambrosi et al. 2010). Analisis diversitas genetik 192 aksesori jarak pagar yang dikumpulkan dari berbagai daerah di Brasil merefleksikan latar belakang genetik

yang mirip (*common ancestry*), *genetic drift*, dan proses seleksi yang intensif dari bahan tanaman jarak pagar sejak awal perkembangannya (Rosado et al. 2010). Diversitas genetik yang sempit juga dilaporkan pada koleksi aksesori jarak pagar di India dan Cina (Sun et al. 2012) dan Indonesia (Dewi et al. 2013; Satyawati dan Tasma 2011a).

Basha dan Sujatha (2007) melaporkan variabilitas antarpopulasi dan di dalam populasi *J. curcas* dari 42 aksesori yang dikoleksi dari berbagai daerah di India dan satu aksesori nontoksik asal Meksiko yang dianalisis menggunakan marka RAPD dan ISSR. Tingkat polimorfisme antarpopulasi masing-masing sebesar 42,0% (hasil uji dengan 400 marka RAPD) dan 33,5% (hasil uji dengan 100 marka ISSR) yang mengindikasikan bahwa variabilitas genetiknya sedang. Studi khusus untuk diversitas genetik jarak pagar dengan biji toksik dan nontoksik yang dikoleksi di India dilaporkan oleh Sujatha et al. (2005). Hasil uji dengan 435 marka RAPD menunjukkan bahwa indeks kesamaan antara aksesori jarak pagar dengan biji toksik dan nontoksik sebesar 96,3%. Untuk meningkatkan diversitas genetik *J. curcas* di India, perlu diadakan introduksi aksesori dengan lingkungan tumbuh yang lebih luas.

Studi diversitas genetik yang lebih luas untuk mengetahui tingkat variabilitas genetik antarspesies dalam genus *Jatropha* telah dilakukan oleh Pamidiamarri et al. (2008). Studi ini melibatkan enam spesies, yaitu *J. curcas*, *J. integerrima*, *J. podagrica*, *J. multifida*, *J. gossypifolia*, dan *J. glandulifera* yang dianalisis dengan marka RAPD dan AFLP. Persentase lokus RAPD dan AFLP yang polimorfik di antara enam spesies yang diuji sangat tinggi masing-masing sebesar 97,74% dan 97,25%. Persentase polimorfisme rerata berturut-turut sebesar 68,48% dan 71,33% untuk RAPD dan AFLP. Dari studi kluster diperoleh bahwa spesies yang memiliki kekerabatan yang paling dekat dengan *J. curcas* adalah *J. integerrima*. Data ini mendukung mengapa kedua spesies ini dapat disilangkan dengan baik untuk menghasilkan hibrida biji fertil dan tanaman progeni yang normal.

Satyawan dan Tasma (2011a) melaporkan diversitas genetik 51 aksesori jarak pagar Indonesia yang dikoleksi oleh Puslitbangun, Balitbangtan. Dari hasil analisis menggunakan 64 marka RAPD, aksesori-aksesori tersebut memiliki kesamaan rerata 75% yang menunjukkan bahwa koleksi jarak pagar Indonesia memiliki diversitas genetik rendah. Penambahan aksesori dengan latar belakang genetik yang bervariasi, termasuk aksesori dari *germplasm pool* nontoksik, diperlukan untuk meningkatkan diversitas genetik koleksi plasma nutfah jarak pagar. Analisis dendrogram

membagi aksesori-aksesori ini ke dalam dua kelompok besar. Pembagian kelompok tidak berkorelasi dengan daerah asal aksesori masing-masing sehingga konsisten dengan hipotesis bahwa tanaman jarak pagar baru masuk ke Indonesia sekitar empat abad yang lalu dan penyebarannya lebih banyak difasilitasi oleh manusia. Rendahnya diversitas genetik koleksi jarak pagar di Indonesia ini memerlukan usaha peningkatan diversitas SDG jarak pagar untuk mendukung keberhasilan program pemuliaan jarak pagar ke depan, termasuk mengintroduksi aksesori-aksesori nontoksik dari Meksiko. Diversitas genetik yang rendah juga dilaporkan oleh Dewi et al. (2013) yang menguji delapan genotipe asal Nusa Tenggara Barat menggunakan lima marka isozim. Hasil pengujian menunjukkan diversitas genetik sebesar 0–25%, sedangkan berdasarkan data kualitatif dan kuantitatif hasil dan komponen hasil dihasilkan diversitas genetik sebesar 6–33%.

Data di atas menunjukkan bahwa diversitas genetik populasi jarak pagar di Indonesia dan global memang rendah. Dengan demikian, program pemuliaan tanaman untuk perbaikan bahan tanaman jarak pagar selama ini umumnya didasarkan pada pangkalan genetik (*genetic base*) dengan diversitas genetik yang sempit. Adanya langkah-langkah untuk peningkatan diversitas genetik jarak pagar diperlukan, antara lain dengan melakukan persilangan intra- dan antarspesies atau intra- dan antargenus, melakukan mutasi fisik pada level kromosom, mutasi kimia pada level basa DNA, mutasi yang dibantu *tool* bioteknologi, seperti variasi somaklonal secara *in vitro*, ataupun mutasi melalui insersi DNA transposon dan sisipan gen faktor transkripsi (*enhancer trap technology*). Pembentukan populasi dan persilangan intra- dan antarspesies dan teknologi penyisipan genom jarak pagar, baik menggunakan gen faktor transkripsi maupun mutasi fisik dengan penyinaran tampaknya mempunyai prospek cukup baik untuk mendapatkan progeni yang memiliki keunggulan karakter target pemuliaan. Aplikasi bioteknologi akan memfasilitasi percepatan peningkatan diversitas genetik dan perakitan bahan tanaman unggul jarak pagar. Karena diversitas genetik antar-*germplasm pool* toksik dan nontoksik yang relatif tinggi (Montes et al. 2014), Indonesia sangat perlu memiliki *germplasm pool* biji nontoksik asal Meksiko tersebut untuk meningkatkan potensi heterosis karakter daya hasil biji dan karakter agronomis penting lainnya untuk meningkatkan potensi keberhasilan program pemuliaan jarak pagar nasional ke depan.

### Peta Genetik untuk Pemetaan Gen/QTL Karakter Unggul

Peta genetik beberapa marka molekuler, seperti SSR, *single nucleotide polymorphism* (SNP), RAPD, AFLP, dan ISSR, pada genom tanaman merupakan prasyarat diketahuinya peta gen/*quantitative trait loci* (QTL) untuk karakter unggul. Marka molekuler yang terpaut dengan gen/QTL karakter unggul tersebut selanjutnya dapat diaplikasikan untuk seleksi populasi pemuliaan (Guimarães et al. 2007; Tasma et al. 2011; Wen et al. 2010).

Peta pautan genetik jarak pagar pertama kali dikonstruksi menggunakan dua populasi silang balik interspesifik *J. curcas* × *J. integerrima* (Wang et al. 2011). Peta genetik ini dikonstruksi menggunakan 506 marka yang terdiri atas 216 marka SSR dan 290 marka SNP yang terdistribusi pada 11 kromosom jarak pagar. Panjang total peta genetik yang dikonstruksi 1.440,9 cM dengan rerata jarak antara dua marka yang berdampingan sebesar 2,8 cM (Wang et al. 2011). Peta genetik ini merupakan fondasi penting untuk pemetaan gen dan QTL dari karakter agronomis penting, pemuliaan berbantuan marka, dan memfasilitasi usaha kloning gen dan QTL yang bertanggung jawab terhadap fenotipe karakter unggul jarak pagar.

King et al. (2013) mempublikasikan peta genetik jarak pagar berikutnya yang didasarkan pada empat populasi interspesifik *J. curcas* × *J. integerrima*. Peta pautan genetik yang dihasilkan pada populasi masing-masing diintegrasikan menjadi satu peta genetik menggunakan *software JoinMap*® untuk menghasilkan peta genetik gabungan dengan panjang jarak genetik 717,0 cM dengan rerata jarak genetik antara dua marka yang berdampingan sebesar 1,5 cM (King et al. 2013). Peta genetik ini telah digunakan untuk memetakan karakter konsentrasi PE pada biji, satu karakter penting yang menyebabkan biji jarak pagar toksik. Peta genetik ini memetakan delapan kelompok pautan (LG) pada genom jarak pagar. Karakter pengendali PE ini ternyata diturunkan secara maternal dan dikendalikan oleh gen tunggal.

Peta pautan genetik jarak pagar paling mutakhir dikonstruksi oleh Wu et al. (2015). Peta genetik dikonstruksi berdasarkan dua populasi BC<sub>1</sub> (*J. curcas* × *J. integerrima*). Peta genetik ini terdiri atas 1.208 marka SNP, insersi dan delesi (indel), dan SSR yang melibatkan pemetaan sambungan sekuen genom (*genome assembly*) hasil analisis bioinformatik data sekuen genom jarak pagar yang disambung saat menyusun peta sekuen genom rujukan jarak pagar. Sebanyak 81,7% dari *genome assembly* terpetakan pada peta genetik ini yang lokasinya terdistribusi

merata pada 11 kromosom jarak pagar. Penelitian ini menghasilkan peta genetik jarak pagar sepanjang 1.655,8 cM dengan rerata densitas marka 1,4 cM (Wu et al. 2015). Peta genetik ini disusun pada 11 LG yang sama dengan jumlah kromosom jarak pagar dengan penomoran kromosom persis sama seperti penomoran pada peta genetik sebelumnya (King et al. 2013; Wang et al. 2011).

Genom jarak pagar ternyata berkerabat sangat dekat dengan genom tanaman jarak kepyar (keduanya penghasil bahan bakar nabati), terbukti sebagian besar data sekuen jarak kepyar dapat dipetakan pada genom jarak pagar (Wu et al. 2015). Pemetaan komparasi genom jarak pagar dengan genom jarak kepyar berhasil memetakan sebanyak 410 *scaffold* (189,8 Mb) genom jarak kepyar ke genom jarak pagar yang mendapatkan 320 blok *synteny* yang terkonservasi pada kedua genom dan mengandung 10.760 gen jarak pagar yang juga terdapat pada genom jarak kepyar (Wu et al. 2015). Peta kolinearitas gen ini memberikan alternatif tambahan untuk mengisolasi gen jarak pagar dari tanaman berkerabat dekat seperti jarak kepyar. Demikian juga, marka DNA jarak kepyar yang kolinear dengan marka DNA jarak pagar dapat digunakan untuk mendukung program pemuliaan kedua komoditas tersebut.

Ketersediaan tiga peta genetik jarak pagar (yang juga mengandung *synteny* genom jarak kepyar) hasil konstruksi tiga kelompok peneliti yang berbeda (King et al. 2013; Wang et al. 2011; Wu et al. 2015) menyediakan fondasi yang kuat dan sangat penting bagi pemulia tanaman jarak pagar untuk mengidentifikasi dan melabel gen dan QTL karakter-karakter bernilai ekonomis tinggi, di antaranya karakter komponen hasil, pembungaan, dan panen buah serempak untuk menurunkan biaya panen; rasio bunga betina dan bunga jantan yang tinggi sehingga produktivitas biji meningkat; bijinya nontoksik sehingga ampas biji jarak pagar setelah diperas minyaknya dapat langsung digunakan sebagai pakan ternak; kadar dan mutu minyak yang tinggi sehingga meningkatkan kualitas biodiesel; karakter penting lainnya, seperti ketahanan terhadap hama dan penyakit utama, juga toleransi terhadap cekaman lingkungan, seperti kekeringan dan keracunan Al.

Beberapa contoh QTL penting telah dipetakan menggunakan peta genetik tersebut seperti diuraikan di bawah ini. Sun et al. (2012) memetakan QTL untuk sebelas karakter pertumbuhan dan karakter biji. Lima QTL dideteksi mengendalikan tinggi tanaman, jumlah cabang per tanaman, jumlah bunga betina, dan jumlah biji per tanaman yang dikendalikan alel dari *J. integerrima*, serta dua QTL pengendali karakter hasil

biji dikendalikan oleh alel dari *J. curcas*. Populasi pemetaan yang sama telah digunakan oleh Liu et al. (2011) untuk memetakan 18 QTL pengendali karakter kadar dan kualitas minyak biji jarak pagar. Tiga QTL berbasis gen (qC18:1-1, qOilC-4, dan qOleIII-5) berturut-turut mengendalikan karakter konsentrasi asam oleat, kadar minyak pada biji, dan ekspresi gen asam oleat telah dipetakan pada genom jarak pagar berdasarkan informasi SNP berbasis gen yang dipetakan pada genom jarak pagar (Sun et al. 2012). Pelabelan karakter-karakter penting di atas dengan marka DNA memfasilitasi percepatan program pemuliaan jarak pagar melalui pemuliaan molekuler menggunakan teknik MAS, *marker-assisted backcross* (MAB), dan GS yang akan mempercepat pembentukan varietas unggul jarak pagar. Pelabelan gen/QTL karakter bernilai ekonomis tinggi juga dapat dilakukan pada materi genetik jarak pagar Indonesia untuk mempercepat program pemuliaan jarak pagar nasional ke depan.

## PERKEMBANGAN TEKNOLOGI GENOMIKA TANAMAN JARAK PAGAR

### Sekuen Genom Rujukan untuk Akselerasi Program Pemuliaan

Sekuen genom rujukan digunakan sebagai pedoman untuk menganalisis variasi genom genotipe-genotipe jarak pagar pada koleksi SDG jarak pagar melalui penelitian resequencing genotipe-genotipe terpilih (Tasma 2015, 2016a). Sekuen genom rujukan ini menjadi pedoman untuk studi lanjutan berbagai individu, baik akses/genotipe anggota spesies maupun spesies yang berkerabat dekat dengan jarak pagar. Revolusi teknologi sekuensing DNA dengan teknologi *next-generation sequencing* (NGS) menurunkan biaya sekuensing genom yang memungkinkan menyekuen lebih banyak genom berbagai spesies tanaman dengan biaya yang lebih terjangkau (Tasma 2015, 2016a; Varshney et al. 2009).

Draf peta sekuen genom rujukan jarak pagar pertama kali dilaporkan pada tahun 2011 yang telah menyelesaikan 285,86 Mbp sekuen genom jarak pagar (70–75% ukuran genom jarak pagar) (Sato et al. 2011). Sekuen ini mewakili 95% daerah yang mengandung gen (*gene containing regions*) pada jarak pagar dengan rerata kandungan basa GC (*GC content*) sebesar 34,3%. Dari penelitian ini dilaporkan, dari 40.929 sekuen gen lengkap atau parsial terdapat sebanyak 1.529 gen (4%) yang merupakan gen putatif penyandi protein spesifik untuk genom tanaman famili Euphorbiaceae. Total gen tunggal (*unigene*) sebanyak 21.225 gen (Sato et al. 2011).

Peta sekuen genom yang lebih lengkap telah diselesaikan pada tahun 2015 dengan panjang urutan basa 320,5 Mbp dan mengandung 27.172 gen yang mengode protein putatif dengan rerata panjang sekuen gen penyandi protein (*coding sequence*) sebesar 1.097 bp (Wu et al. 2015) (Gambar 1). Data sekuen ini secara keseluruhan mewakili sekitar 77% genom jarak pagar dan merepresentasikan >94% area genom yang mengandung gen (*euchromatic regions*). Dilaporkan bahwa sekitar 49,8% draf sekuen genom jarak pagar merupakan sekuen berulang (*repeated sequences*), 92,3% di antaranya adalah elemen transposon (*transposable elements*). Analisis pengelompokan famili gen menghasilkan 15.268 famili gen dan 13.887 famili gen di antaranya ditemukan pada genom jarak kepyar dengan 496 famili gen adalah unik untuk jarak pagar (Wu et al. 2015).

Genom jarak pagar ternyata kaya dengan area duplikasi (*duplication regions*) yang mengindikasikan bahwa tanaman jarak pagar mempunyai sejarah tetraploid (*ancient tetraploid*) mirip dengan karakteristik genom kebanyakan tanaman penghasil minyak lainnya, seperti kedelai (Schmutz et al. 2010) dan kelapa sawit (Singh et al. 2013). Data sekuen genom hasil penelitian Wu et al. (2015) telah dipetakan pada peta genetik jarak pagar yang dikonstruksi berdasarkan populasi  $F_1$  *J. curcas* × *J. integerrima* (Gambar 1B). Sebanyak 81,7% *scaffolds* yang dihasilkan dari data sekuen telah dipetakan pada peta genetik tersebut dan terpetakan dengan baik yang menunjukkan bahwa data sekuen tersebut berkolineritas sangat baik dengan data peta genetik jarak pagar yang dikonstruksi dengan marka SSR, indel, dan SNP. Pada peta tersebut digunakan 1.208 marka yang berasal dari genom jarak kepyar pada peta genom jarak pagar yang menunjukkan bahwa genom jarak pagar sangat berkerabat dekat dengan genom jarak kepyar, seperti juga ditunjukkan oleh kekerabatan genetik yang sangat dekat antara kedua spesies tanaman tersebut (Chan et al. 2010; Wu et al. 2015). Peta sekuen genom di atas menjadi fondasi dan rujukan bagi peneliti genomika dan pemulia tanaman untuk menganalisis variasi genom berbagai akses plasma nutfah, termasuk kerabat liar jarak pagar, dalam rangka penemuan varian-varian baru, gen, ataupun QTL unggul untuk karakter bernilai ekonomis tinggi yang mengakselerasi program pemuliaan jarak pagar.

### Resekuensing Genom untuk Karakterisasi SDG dan Penemuan Gen Unggul

Dalam rangka penyiapan sumber daya pemuliaan tanaman jarak pagar, BB Biogen, Balitbangtan, Kementerian Pertanian telah meresequen tiga



genotipe jarak pagar Indonesia, yaitu individu terpilih IP-3P-F2, NP1, dan ICS 36 (Rijzaani et al. 2016; Tasma 2015, 2016a). IP-3P-F2 adalah turunan  $F_2$  individu terpilih IP produktivitas tinggi hasil seleksi di lahan basah di KP Pakuwon, Sukabumi. ICS36 adalah individu terpilih dengan produktivitas dan kadar minyak tinggi; NP1 adalah individu jarak pagar toleran kekeringan yang berasal dari Pulau Nusa Penida, Kabupaten Klungkung, Bali.

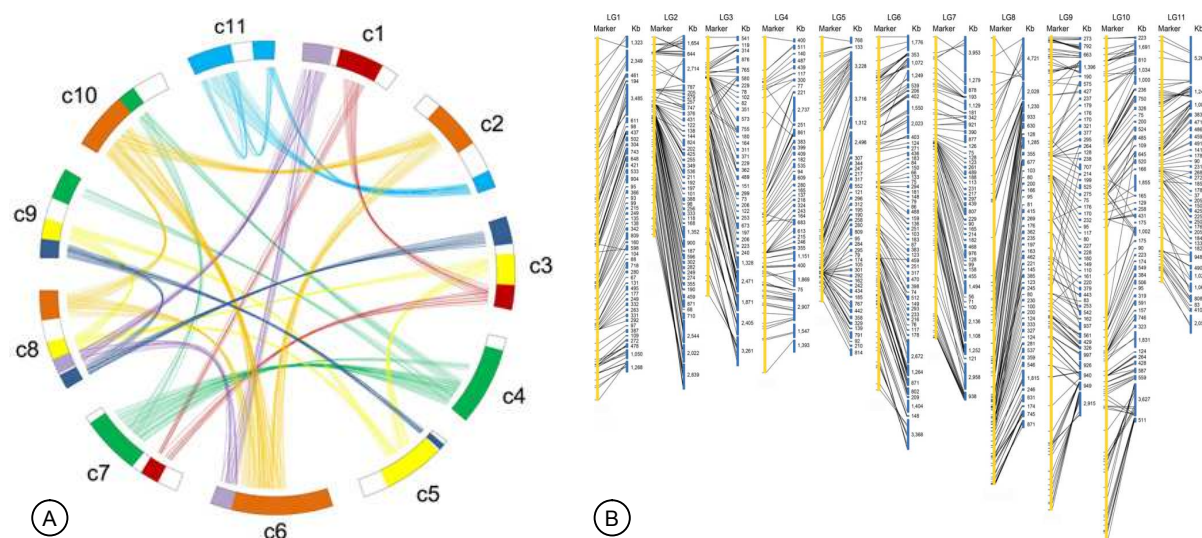
Penjajaran data resekuen dengan draf sekuen rujukan jarak pagar (Sato et al. 2011) menemukan 92.007 SNP berbasis gen dan di luar gen (Rijzaani et al. 2016; Tasma et al. 2012, 2015). Di samping itu, variasi indel diidentifikasi pada level genom. Data sekuen genom tiga genotipe jarak pagar Indonesia dan data variasi genom yang teridentifikasi (SNP dan indel) dapat diakses pada basis data Pusat Genom Komoditas Pertanian di situs Balitbangtan (<http://www.genom.litbang.pertanian.go.id>). Basis data ini dapat diakses publik global sehingga sangat bermanfaat bagi peneliti yang berminat, baik untuk mempelajari genom jarak pagar, mencari marka, atau kandidat gen untuk program pemuliaan maupun untuk studi genetika jarak pagar. Koleksi SNP dan indel ini merupakan sumber daya pemuliaan yang bernilai tinggi untuk mendesain marka untuk penemuan gen/QTL karakter penting yang menjadi target pemuliaan jarak pagar.

Di samping penelitian resequencing tiga genotipe jarak pagar di atas, untuk menyusun peta genom rujukan yang lebih lengkap dan komprehensif, serta menyempurnakan sekuen genom yang telah dipubli-

kasi (Sato et al. 2011; Wu et al. 2015), telah dibentuk konsorsium analisis genom jarak pagar yang melibatkan kerja sama antara BB Biogen dengan *Seoul National University/SNU* (Korea Selatan) dan *Kasertsart University* (Thailand). Saat ini, finalisasi analisis sekuen dan pemetaan genom dan pemetaan genetika karakter penting jarak pagar sedang dilakukan berdasarkan populasi  $F_2$  menggunakan marka SNP kapasitas tinggi. Data genom jarak pagar hasil kerja sama tersebut tersimpan di situs SNU yang dapat diakses oleh publik dengan alamat situs: [plantgenomics.snu.ac.kr](http://plantgenomics.snu.ac.kr).

### APLIKASI TEKNOLOGI REKAYASA GENETIKA PADA TANAMAN JARAK PAGAR

Keberhasilan perakitan bahan tanaman unggul menggunakan gen-gen target pemuliaan dengan teknik rekayasa genetika sangat bergantung pada penguasaan teknik regenerasi tanaman secara *in vitro*, metode transformasi gen, dan tersedianya gen-gen karakter target pemuliaan yang ditransformasikan ke dalam genom jarak pagar. Perbanyakan bahan tanaman secara *in vitro* telah disampaikan sebelumnya dan telah cukup berhasil dilakukan pada jarak pagar (Deore dan Johnson 2008; Sujatha et al. 2008). Sekali bahan tanaman unggul dihasilkan, perbanyakannya secara massal dapat dilakukan menggunakan teknik perbanyakan somatik embriogenesis untuk mendapatkan bahan tanaman unggul yang seragam dan dalam jumlah banyak dalam waktu relatif singkat. Perbanyakan bahan tanaman jarak pagar secara *in vitro* juga merupakan prasyarat awal untuk pe-



**Gambar 1.** Peta sekuen genom dan synteny genom jarak pagar (Wu et al. 2015). A = representasi skematik hubungan antarkromosom (*interchromosomal relationships*) berdasarkan hasil analisis 1.045 kelompok gen paralog (*paralogous gene groups*) pada genom jarak pagar, B = penjangkaran *sequence assembly* pada peta genetika jarak pagar (*J. curcas* × *J. integririma*). *Assembled scaffolds* (warna biru) sepanjang 261,8 Mb dari sekuen genom jarak pagar dijangkarkan (*anchored*) pada 11 kelompok pautan (LG1–LG11, warna kuning) yang dikonstruksi dengan 1.208 marka molekuler dari genom jarak kepyar.



rakitan tanaman rekayasa genetika untuk mendapatkan tanaman transgenik yang membawa dan mengekspresikan gen karakter target.

Protokol metode transformasi telah tersedia menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* (Li et al. 2006, 2008) dan tanaman transgenik jarak pagar yang mengandung gen *DREB1* dari tanaman model *Arabidopsis* telah berhasil diperoleh. Transformasi gen *ERF* dari jarak pagar (*JcERF*) menghasilkan tanaman transgenik dengan peningkatan toleransi terhadap salinitas dan temperatur beku. Hasil studi ini merupakan fondasi penting untuk melakukan perbaikan bahan tanaman jarak pagar melalui teknik rekayasa genetika untuk karakter-karakter target yang urgen diperlukan sehingga didapatkan bahan tanaman ideal yang dapat dibudidayakan secara menguntungkan dan berkelanjutan.

Sesuai tujuan pemuliaan jarak pagar, pembentukan tanaman transgenik jarak pagar sebaiknya diarahkan pada karakter target sebagai berikut: (1) tanaman dengan kuantitas dan kualitas minyak pada biji yang tinggi, (2) tanaman berkeragaan pendek (*dwarf plants*) untuk memudahkan pengelolaan kebun dan aplikasi mekanisasi pertanian, (3) tanaman dengan jumlah cabang sedikit untuk memudahkan panen secara mekanis, (4) tanaman dengan kematangan buah serempak untuk menghindari pecah biji sebelum panen (*seed shattering*) dan menurunkan biaya panen, dan (5) perbaikan kadar dan mutu minyak jarak pagar agar usaha perkebunan lebih ekonomis dan mutu minyaknya berkualitas dan bernilai tinggi. Berikut adalah ulasan tentang beberapa karakter penting tanaman jarak pagar yang sangat potensial untuk diperbaiki melalui aplikasi teknologi rekayasa genetika menggunakan gen-gen yang telah diisolasi, baik dari genom tanaman maupun organisme lainnya seperti mikroba.

#### **Perakitan Bahan Tanaman dengan Kuantitas dan Kualitas Asam Lemak Tinggi pada Biji**

Hasil akhir budi daya jarak pagar adalah minyaknya yang diekstrak dari biji sehingga pengetahuan lintasan genetik biosintesis asam lemak pada biji sangat penting dipahami untuk mengetahui gen-gen yang menjadi target manipulasi peningkatan kuantitas dan kualitas minyak biji. Asam lemak pada tanaman disintesis sebagai *triacylglycerol* (TAG) melalui lintasan genetik yang kompleks yang melibatkan banyak enzim (Maghuly dan Laimer 2013). Asam lemak utama yang ditemukan pada tanaman termasuk jarak pagar terdiri atas asam lemak jenuh, seperti asam palmitat (16 : 0) dan asam stearat (18 : 0); asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acids*)

seperti asam oleat (18 : 1); asam lemak tak jenuh poli (*polyunsaturated fatty acids*), seperti asam linoleat (18 : 2) dan asam linolenat (18 : 3) (Tabel 1) (Giibitz et al. 1999; Qu et al. 2012). Minyak jarak pagar terdiri atas asam palmitat 14,1–15,3%, asam stearat 3,7–9,8%, asam oleat 34,3–45,8%, dan asam linolenat 29,0–44,2% (Carvalho et al. 2008).

Untuk meningkatkan kualitas biodiesel yang dihasilkan, produsen biodiesel lebih menyukai minyak yang kaya akan asam lemak tak jenuh tunggal daripada asam lemak tak jenuh poli karena asam lemak tak jenuh poli menurunkan stabilitas biodiesel, meningkatkan stabilitas oksidatif, dan memengaruhi angka *cetane* (*cetane number*) minyak diesel yang dihasilkan (Knothe 2008; Qu et al. 2012). Agar diperoleh minyak jarak pagar kualitas tinggi yang sesuai sebagai bahan baku substitusi minyak diesel, target pemuliaan tanaman jarak pagar dengan demikian diarahkan untuk merakit varietas yang menghasilkan minyak dengan kandungan asam lemak tak jenuh (asam oleat) >70% dan asam lemak jenuh <10%. Hal ini dapat dicapai dengan mengubah komposisi asam lemak biji jarak pagar. Teknologi rekayasa genetika dapat mengambil peran penting dalam program pemuliaan jarak pagar dengan kualitas minyak tinggi melalui transformasi gen-gen penting yang mengatur peningkatan kandungan asam oleat pada biji.

Analisis transkriptom telah berhasil dilakukan untuk mengetahui gen-gen yang terlibat dalam biosintesis asam lemak pada biji jarak pagar. Hasil analisis menunjukkan ekspresi gen kunci yang terlibat dalam biosintesis asam lemak pada biji jarak pagar yang masih berkembang di pohon terjadi pada 14–45 hari setelah polinasi (HSP). Kebanyakan gen-gen tersebut ekspresinya meningkat (*upregulated*) pada 29–41 HSP dan ekspresi kebanyakan gen penyandi protein pada *oil body* meningkat sejak biji berumur 35 HSP. Menariknya, pembentukan *oil body* mulai terjadi pada 28 HSP, berkembang sangat aktif sampai dengan 42 HSP, dan mencapai jumlah dan ukuran maksimum setelah 56 HSP (Jiang et al. 2012).

Gen-gen yang aktif terlibat dalam biosintesis asam lemak pada biji jarak pagar dan peran setiap gen yang terlibat terlihat pada lintasan genetik asam lemak yang diusulkan oleh Maghuly dan Laimer (2013). Biosintesis tersebut melibatkan dua kompartemen sel, yaitu kloroplas dan retikulum endoplasma, termasuk juga sitosol. Dengan demikian, manipulasi gen-gen kunci menggunakan teknik rekayasa genetika dapat dilakukan untuk meningkatkan kuantitas dan kualitas minyak pada biji jarak pagar.

**Tabel 1.** Komposisi asam lemak minyak jarak pagar (Giibitz et al. 1999).

Asam lemak	Struktur	Formula	Komposisi (% berat)
Miristat	(14 : 0)	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	0,0–0,1
Palmitat	(16 : 0)	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	14,1–15,3
Palmitoleat	(16 : 1)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0,0–1,3
Stearat	(18 : 0)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	3,7–9,8
Oleat	(18 : 1)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	34,3–45,8
Linoleat	(18 : 2)	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	29,0–44,2
Linolenat	(18 : 3)	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0,0–0,3
Arachidat	(20 : 0)	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	0,0–0,3
Behenat	(22 : 0)	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	0,0–0,2

### Perakitan Bahan Tanaman Berbatang Pendek

Pemendekan ukuran tanaman (*plant dwarfism*) yang juga dapat meningkatkan indeks panen (*harvest index*) tanaman jarak pagar penting untuk dilakukan. Indeks panen didefinisikan sebagai perbandingan hasil biji dengan biomassa total. Pemanjangan tanaman ditentukan oleh gen-gen yang terlibat dalam biosintesis giberelin (GA). Penghambatan gen-gen utama dalam biosintesis GA ini tentu dapat menghasilkan keragaan tanaman jarak pagar yang pendek. Penghambatan GA pada tanaman telah berhasil dilakukan dengan bahan kimia anti-GA, seperti senyawa *paclobutrazol* dan *chlormequat*, yang menghasilkan tanaman pendek (Armstrong dan Nocol 1991).

Tanaman jarak pagar pendek juga dapat dihasilkan dengan teknik rekayasa genetika berupa penghambatan gen-gen yang terlibat dalam biosintesis GA yang telah diklon (Yamaguchi et al. 1998), yaitu dengan teknik *RNA inhibitor* (RNAi) atau *antisense RNA*. Alternatif lainnya adalah dengan mengoverekspresikan gen yang menghambat terbentuknya GA menggunakan gen-gen yang telah diisolasi sebelumnya, seperti gen *defective giberelic acid insensitive* (DGA1) yang telah terbukti dapat menghasilkan tanaman pendek pada serealia (Peng et al. 1999). Overekspresi gen ini pada jarak pagar mempunyai potensi besar untuk menghasilkan tanaman transgenik yang berbatang pendek.

Pertanaman jarak pagar berbatang pendek akan memudahkan pelaksanaan panen buah sehingga pemanenan buah lebih efisien. Di samping itu, panen buah dapat dilakukan dengan teknik mekanisasi dengan biaya yang lebih murah dibanding dengan cara manual pada pertanaman dengan keragaan arsitektur tanaman yang tinggi. Strategi serupa telah dilakukan pada kelapa sawit yang menghasilkan tanaman berbatang pendek dengan masa produktivitas lebih panjang (Tasma 2016b).

### Perakitan Bahan Tanaman dengan Jumlah Cabang Sedikit

Jumlah cabang per tanaman yang berkurang merupakan karakter target pemuliaan berikutnya. Pengurangan jumlah cabang tanaman sangat penting untuk memudahkan pemanenan buah secara mekanik yang membuat biaya panen jauh lebih murah dibanding dengan cara manual. Pengurangan jumlah cabang harus diimbangi dengan peningkatan populasi tanaman per satuan luas untuk dapat menjaga produktivitas tanaman tetap tinggi, mengingat jumlah cabang berkorelasi positif dengan hasil biji per tanaman.

Pembentukan tanaman transgenik dengan mentransformasikan gen-gen yang terlibat dalam biosintesis auksin (IAA) menjadi pilihan yang bijak untuk mempersedikit jumlah cabang tanaman jarak pagar. Pemanfaatan gen yang terlibat dalam lintasan biosintesis auksin pada mikroba dengan merekayasanya secara genetik pada genom jarak pagar menggunakan gen *iaaH* yang diisolasi dari jamur dan *iaaM* yang diisolasi dari bakteri. Rekayasa genetik kedua gen dilakukan sedemikian rupa secara bersama-sama sehingga terjadi penghambatan produk gen (*gene suppression*) dari pembentukan senyawa auksin pada tanaman jarak pagar yang berpotensi besar menghasilkan tanaman jarak pagar dengan jumlah cabang yang lebih sedikit (Gaudin et al. 1994).

### Perakitan Bahan Tanaman dengan Buah Matang Serempak

Pencegahan jatuhnya biji di pertanaman akibat buah kering pecah sebelum waktu panen (*seed shattering*) merupakan langkah penting untuk mencegah penurunan hasil. Panen secara serempak dan membuat buah menggerombol pada ujung cabang juga dapat mencegah *seed shattering*. Beberapa pilihan gen dapat digunakan untuk direkayasa secara genetik untuk mendapatkan fenotipe tanaman jarak pagar dengan keragaan buah panen serempak dan mencegah hilangnya biji di pertanaman. Gen-gen ter-

sebut antara lain gen *SHATTERPROOF* yang diisolasi dari *Arabidopsis* yang terbukti dapat mencegah *seed shattering* pada *Arabidopsis* (Liljegren et al. 2000). Gen tersebut dapat direkayasa secara genetik untuk ditransformasikan ke dalam genom jarak pagar untuk menghasilkan tanaman yang anti-*seed shattering*.

Kandidat lain yang dapat digunakan adalah gen *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1* dan *TLP2*) dari *Arabidopsis* yang dapat membuat fenotipe bunga bergerombol pada ujung cabang dan tanaman berbunga berhenti di ujung cabang (*determinate*) sehingga panennya serempak (Esumi et al. 2008). Dengan berkembangnya informasi sekuen genom rujukan jarak pagar, ortolog gen serupa semestinya juga dapat diisolasi dari genom jarak pagar sendiri sehingga lebih cocok untuk dimanipulasi melalui teknik rekayasa genetika.

#### **PERSPEKTIF PERBAIKAN GENETIK TANAMAN JARAK PAGAR DENGAN METODE PEMULIAAN BERBASIS BIOTEKNOLOGI**

Pemuliaan jarak pagar di Indonesia diarahkan untuk mendapatkan varietas unggul produktivitas tinggi (produktivitas biji dan kadar minyak biji tinggi), tanaman berarsitektur pendek, bercabang sedikit (dengan meningkatkan jumlah populasi tanaman per satuan luas), buahnya matang serempak, tumbuh dan menghasilkan biji dan minyak secara ekonomis di lahan suboptimal, toleran terhadap cekaman biotik dan abiotik, dan kualitas minyaknya tinggi dan sesuai sebagai bahan baku minyak diesel. Peran bioteknologi diharapkan dapat mempercepat pencapaian tujuan pemuliaan di atas. Aplikasi bioteknologi meliputi penggunaan teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro* untuk mendapatkan tanaman unggul yang seragam dan dalam jumlah banyak, teknologi rekayasa genetika untuk mentransfer gen ke dalam genom tanaman jarak pagar yang bersumber dari organisme tidak sekerabat, termasuk hewan dan mikroorganisme; teknologi MAS, MAB, dan GS untuk menyeleksi individu tanaman jarak pagar yang membawa karakter target menggunakan marka molekuler dari karakter target pada umur dini sehingga mempercepat siklus dan pencapaian target pemuliaan.

Untuk memperbaiki produktivitas tanaman jarak pagar tersebut, pengetahuan heterosis tanaman ini penting mendapat perhatian. Heterosis pada karakter hasil biji telah dilaporkan pada empat persilangan *interpool* (persilangan antara *germplasm pool* toksik dan nontoksik) yang efek heterosisnya antara 33–263% berdasarkan rerata keragaan kedua tetua (*mid parent performance*) dan antara 12–196% berdasar-

kan keragaan tetua yang keragaan hasil bijinya lebih tinggi (Tar et al. 2011). Selanjutnya, Biabani et al. (2012) dan Wijaya et al. (2014) melaporkan bahwa heterosis pada hasil biji pada *germplasm pool* jarak pagar toksik menunjukkan heterosis yang moderat. Data ini mengindikasikan bahwa persilangan *interpool* menghasilkan progeni dengan tingkat heterosis yang jauh lebih signifikan dibanding dengan persilangan dalam *germplasm pool* jarak pagar dengan biji toksik.

Saat ini, BB Biogen sedang mengembangkan populasi pemetaan hasil persilangan antarspesies jarak pagar untuk memetakan karakter kadar dan mutu minyak tinggi (Tasma 2015). Individu unggul terpilih IP3 F<sub>3</sub> digunakan sebagai tetua betina disilangkan dengan *J. podagrica* asal Thailand yang memiliki kadar minyak tinggi sebagai tetua jantan. Persilangan dua arah telah menghasilkan populasi pemetaan F<sub>1</sub>. Populasi ini ke depannya di-*genotyping* dengan marka SNP dan dilakukan analisis keragaan fenotipik kadar dan mutu minyaknya untuk melabel karakter tersebut. Tanaman F<sub>1</sub> akan disilangbalikkan (*backcross/BC*) dengan tetua pemulih (*recurrent parent*) IP3 F<sub>3</sub> untuk mendapatkan individu BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> yang seterusnya silang balik dilakukan dua kali lagi untuk memperoleh individu BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>. Individu terpilih BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> diserbuksendirikan (*self-pollinated*) untuk mendapatkan individu BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>. Setiap generasi BC dilakukan seleksi *foreground* dengan marka gen kadar dan mutu minyak dan dilakukan seleksi *background* untuk mendapatkan individu dengan genom tetua berulang IP3 F<sub>3</sub>. Pada tanaman BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> terpilih yang membawa gen kadar dan mutu minyak tinggi dilakukan observasi daya hasil (ODH), diikuti uji daya hasil pendahuluan (UDHP), uji daya hasil lanjutan (UDHL), dan uji multi lokasi (UML) sampai akhirnya dilepas sebagai varietas unggul jarak pagar dengan produktivitas dan kualitas minyak tinggi.

Aplikasi teknologi rekayasa genetika sangat potensial dilakukan di Indonesia mengingat lembaga penelitian di Indonesia, Balitbangtan khususnya, telah cukup berpengalaman dalam merakit tanaman produk rekayasa genetika (PRG) untuk berbagai komoditas tanaman pertanian unggulan nasional, seperti padi, jagung, kentang, kedelai, tebu, dan tomat. Pengalaman serupa tentu dapat diaplikasikan juga pada jarak pagar untuk merakit tanaman PRG unggul menggunakan gen untuk karakter target pemuliaan. Demikian juga, beberapa lembaga penelitian pertanian nasional lainnya telah cukup banyak melakukan penelitian PRG. Didukung dengan penelitian genomika modern dengan sekuensing genom total berbagai genotipe jarak pagar, penemuan gen-gen penting yang bernilai ekonomis tinggi akan dapat dilakukan

dengan baik. Hal ini mendukung penelitian perakitan berbagai varietas unggul PRG dengan karakter unggul, seperti tanaman jarak pagar yang pendek, bercabang sedikit, buahnya matang serempak, rasio bunga betina dan bunga jantan yang tinggi, kandungan dan kualitas minyaknya tinggi, dan bijinya nontoksik. Aplikasi tiga metode pemuliaan tanaman (pemuliaan klonal, pemuliaan populasi, dan pemuliaan hibrida) dikombinasikan dengan metode pemuliaan modern akan mempercepat diperolehnya varietas unggul jarak pagar nasional untuk mendapatkan pertanaman jarak pagar yang ekonomis dan menguntungkan dan minyaknya cocok untuk bahan baku minyak diesel. Bahan tanaman unggul seperti itu akan menguntungkan petani dan produsen biodiesel. Sumber bahan bakar terbarukan ini sangat bermanfaat dalam mendukung kebijakan swasembada energi nasional dan memperkuat kemandirian dan ketahanan energi nasional ke depan.

### KESIMPULAN

Jarak pagar mempunyai keunggulan komparatif karena dapat tumbuh dan beradaptasi baik pada lahan kurang cocok untuk pertumbuhan tanaman penghasil minyak nabati lainnya, seperti jagung, kedelai, bunga matahari, dan kanola. Minyaknya tidak dikonsumsi manusia sehingga pemanfaatannya untuk bahan bakar tidak berkompetisi dengan industri pangan. Tanaman ini masih belum didomestikasi secara penuh, kebanyakan aksesori jarak pagar di dunia bijinya toksik. Varietas unggul jarak pagar yang cocok untuk dapat dibudidayakan secara ekonomis belum tersedia. Perkembangan informasi genomika dan genetika jarak pagar akhir-akhir ini cukup pesat dengan tersedianya dua draft peta genom, peta genetik dengan marka SNP dan SSR, dan peta QTL karakter penting. Diversitas genetik SDG jarak pagar relatif rendah, walaupun diversitas genetik lebih tinggi telah dilaporkan antara plasma nutfah jarak pagar toksik dan nontoksik. Metode regenerasi *in vitro* dan teknologi rekayasa genetika potensial diaplikasikan untuk perbaikan bahan tanaman jarak pagar yang pendek, bercabang sedikit namun jumlah populasi per satuan luas meningkat, berbuah dengan kematangan biji serempak dan buahnya tidak pecah dengan mencegah *seed shattering*, kadar dan kualitas minyak tinggi yang cocok untuk biodiesel. Teknologi genomika dan bioteknologi sangat potensial diaplikasikan untuk memperbaiki bahan tanaman jarak pagar nasional dengan mutu minyak tinggi dan biji nontoksik untuk tujuan industri pakan ternak.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulisan artikel ulasan ini terkait dengan kegiatan penelitian dengan judul "Analisis Genom dan Pemetaan Genetik Komoditas Pertanian Strategis" yang didanai melalui DIPA BB Biogen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian TA 2015 dan 2016.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ambrosi, D.G., Galla, G., Purelli, M., Barbi, T., Fabbri, A. & Lucretti, S. (2010) DNA markers and FCSS analyses shed light on the genetic diversity and reproductive strategy of *Jatropha curcas* L. *Diversity*, 2, 810–836.
- Armstrong, E.L. & Nicol, H.I. (1991) Reducing the height in rapeseed with growth regulators. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31, 245–250.
- Basha, S.D. & Sujatha, M. (2007) Inter- and intra-population variability of *Jatropha curcas* (L.) characterized by RAPD and ISSR markers and development of population-specific SCAR markers. *Euphytica*, 156 (3), 375–386.
- Biabani, A., Rafii, M.Y., Saleh, G., Shabanimofrad, M. & Latif, M.A. (2012) Combining ability analysis and evaluation of heterosis in *Jatropha curcas* L. F<sub>1</sub>-hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, 6, 1030–1036.
- Biello, D. (2009) Green fuels for jets. *Scientific American*, 19, 68–69.
- Carvalho, C.R., Clarindo, W.R., Praca, M.M., Araujo, F.S. & Carels, N. (2008) Genome size, base composition and karyotype of *Jatropha curcas* L., an important biofuel plant. *Plant Science*, 174 (6), 613–617.
- Chan, A.P., Crabtree, J., Zhao, Q., Lorenzi, H., Orvis, J., Puiu, D., Meleke-Berhan, A., Jones, K.M., Redman, J., Chen, G. et al. (2010) Draft genome sequence of the oilseed species *Ricinus communis*. *Nature Biotechnology*, 28 (9), 951–956.
- Contran, N., Chessa, L., Lubino, M., Bellavite, D., Roggero, P.P. & Enne, G. (2013) State of the art of the *Jatropha curcas* productive chain: From sowing to biodiesel and by-products. *Industrial Crops and Products*, 42, 202–215.
- Dehgan, B. & Webster, G.L. (1978) Three new species of *Jatropha* (Euphorbiaceae) from Western Mexico. *Madron*, 25, 30–39.
- Dehgan, B. & Webster, G.L. (1979) Morphology and infrageneric relationships of the genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). *University of California Publications in Botany*, 74, 1–73.
- Dehgan, B. (1984) Phylogenetic significance of interspecific hybridization in *Jatropha* (Euphorbiaceae). *Systematic Botany* 9, 467–78.
- Dehgan, B. & Schutzman, B. (1994) Contribution towards a monograph of neotropical *Jatropha*: Phonetic and phylogenetic analyses. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81, 349–367.
- Deore, A.C. & Johnson, T.S. (2008) High-frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas*

- L.: An important biodiesel plant. *Plant Biotechnology Reports*, 2, 7–11.
- Dewi, I.S., Arisanti, Y., Purwoko, B.S., Hariyadi & Syukur, M. (2013) Keragaman genetik beberapa genotipe jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berdaya hasil tinggi berdasarkan karakter morfologi, agronomi, dan isozim. *Jurnal AgroBiogen*, 9 (1), 28–38.
- Dewi, I.S., Nindita, A., Purwoko, B.S. & Efendi, D. (2012) Induksi tunas pada kotiledon dan hipokotil tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) melalui organogenesis tak langsung. *Jurnal AgroBiogen*, 8 (3), 89–96.
- Dias, L.A., Missio, R.F. & Dias, D.C. (2012) Antiquity, botany, origin, and domestication of *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae), a plant species with potential for biodiesel production. *Genetic and Molecular Research*, 11, 2719–2728.
- Esumi, T., Tao, R. & Yonemori, K. (2008) Expression analysis of the LFY and TFL1 homologs in floral buds of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 77 (2), 128–136.
- Fukuhara, S., Muakrong, N., Kikuchi, S., Tanya, P., Sassa, H., Koba, T. & Srinives, P. (2016) Cytological characterization of an interspecific hybrid in *Jatropha* and its progeny reveals preferential uniparental chromosome transmission and interspecific translocation. *Breeding Science*, 66, 838–844.
- Gaudin, V., Vrain, T. & Jouanin, L. (1994) Bacterial genes modifying hormonal balances in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 32, 11–29.
- Giiibitz, G.M., Mittelbach, M. & Trabi, M. (1999). The exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*, 67, 73–82.
- Guimarães, E.P., Ruane, J., Scherf, B.D., Sonnino, A. & Dargie, J.D. (2007) *Marker-assisted selection: Current status and future perspectives, in crops, livestock, forestry, and fish*. Rome, Italy, Food and Agriculture Organization.
- Hartati, R.S. (2008) Variasi tanaman jarak pagar dari satu sumber benih satu genotipe. *Infotek Jarak Pagar*, 3 (1), 1.
- Hasnam. (2006) Variasi *Jatropha curcas* L. *Infotek Jarak Pagar*, 1 (2).
- Heller, J. (1996) *Physic nut. Jatropha curcas* L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. Rome, International Plant Genetic Resources Institute.
- Jha, T.B., Mukherjee, P. & Datta, M.M. (2007) Somatic embryogenesis in *Jatropha curcas* Linn., an important biofuel plant. *Plant Biotechnology Reports*, 1, 135–140.
- Jiang, H., Wu, P., Zhang, S. & Song, C. (2012) Global analysis of gene expression profiles in developing physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds. *PLoS ONE*, 7, e36522. doi: 10.1371/journal.pone.0036522.
- King, A.J., He, W., Cuevas, J.A., Freudenberger, M., Ramiamanana, D. & Graham, I.A. (2009) Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2897–2905.
- King, A.J., Montes, L.R., Clarke, J.G., Affleck, J., Li, Y., Witsenboer, H., Vossen, E.V.D., Linde, P.V.D., Tripathi, Y., Tavares, E. et al. (2013) Linkage mapping in the oilseed crop *Jatropha curcas* L. reveals a locus controlling the biosynthesis of phorbol esters which cause seed toxicity. *Plant Biotechnology Journal*, 11, 986–996.
- Knothe, G. (2008) Designer biodiesel: Optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy Fuels*, 22, 1358–1364.
- Krishnamurthy, L., Zaman-Allah, M., Marimuthu, S., Wani, S.P. & Rao, A.V.R.K. (2012) Root growth in *Jatropha* and its implication for drought adaptation. *Biomass and Bioenergy*, 39, 247–252.
- Li, M.R., Li, H.Q. & Wu, G.J. (2006) Study on factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation of *Jatropha curcas*. *Journal of Molecular Cell Biology*, 39, 83–89.
- Li, M., Li, H., Jiang, H., Pan, X. & Wu, G. (2008) Establishment of an *Agrobacterium*-mediated cotyledon disc transformation method for *Jatropha curcas*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 92, 173–181.
- Liljegren, S.J., Ditta, G.S., Eshed, Y., Savidge, B., Bowman, J. & Yanofsky, M.F. (2000) SHATTERPROOF MADS-box genes control seed dispersal in *Arabidopsis*. *Nature*, 404, 766–770.
- Liu, P., Wang, C., Li, L., Sun, F. & Yue, G. (2011) Mapping QTLs for oil traits and eQTLs for oleosin genes in *Jatropha*. *BMC Plant Biology*, 11, 132–141.
- Maghuly, F. & Laimer, M. (2013) *Jatropha curcas*, a biofuel crop: Functional genomics for understanding metabolic pathways and genetic improvement. *Biotechnology Journal* 8, 1172–1182.
- Martin, M. & Montes, J.M. (2015) Quantitative genetic parameters of agronomic and quality traits in a global germplasm collection reveal excellent breeding perspectives for *Jatropha curcas* L. *Global Change Biology Bioenergy*, 7, 1335–1343.
- Montes, J.M., Technow, F., Böhlinger, B. & Becker, K. (2013) Seed quality diversity, trait associations and grouping of accessions in *Jatropha curcas* L. *Industrial Crops and Product*, 51, 178–185.
- Montes, J.M., Technow, F., Martin, M. & Becker, K. (2014) Genetic diversity in *Jatropha curcas* L. assessed with SSR and SNP markers. *Diversity* 6, 551–566.
- Openshaw, K. (2000) A review of *Jatropha curcas*: An oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioenergy* 19, 1–15.
- Pamidiamarri, D.V.N.S., Pandya, N., Reddy, M.P. & Radhakrishnan, T. (2008) Comparative study of interspecific genetic divergence and phylogenetic analysis of genus *Jatropha* by RAPD and AFLP. *Molecular Biology Reports*, 36 (5), 901–907.
- Peng, J., Richards, D.E., Hartley, N.M., Murphy, G.P., Devos, K.M., Flintham, J.E., Beales, J., Fish, L.J., Worland, A.J., Pelica, F. et al. (1999) Green revolution genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 400, 256–261.
- Qu, J., Mao, H.Z., Chen, W. & Gao, S.Q. (2012) Development of marker-free transgenic *Jatropha* plants

- with increased levels of seed oleic acid. *Biotechnology for Biofuels*, 5, 10–16.
- Rijzaani, H., Lestari, P., Tasma, I.M. & Priyatno, T.P. (2016) Pusat genom komoditas pertanian Indonesia. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 8 (4), 15–16.
- Rosado, T.B., Laviola, B.G., Faria, D.A., Pappas, M.R., Bhering, L.L. & Quirino, B. (2010) Molecular markers reveal limited genetic diversity in a large germplasm collection of the biofuel crop *Jatropha curcas* L. in Brazil. *Crop Science*, 50, 2372–2382.
- Sabandar, C.W., Ahmat, N., Jaafar, F.M. & Sahidin, I. (2013) Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*, 85, 7–29.
- Sato, S., Hirakawa, H., Isobe, S., Fukui, E., Watanabe, A., Kato, M., Kawashima, K., Minami, C., Muraki, A., Nakazaki, N. et al. (2011) Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. *DNA Research*, 1, 65–76.
- Satyawan, D. & Tasma, I.M. (2011a) Genetic diversity analysis of *Jatropha curcas* provenances assessed with randomly amplified polymorphic DNA markers. *Jurnal AgroBiogen*, 7 (1), 47–55.
- Satyawan, D. & Tasma, I.M. (2011b) DNA markers applicable for genetic mapping of *Jatropha curcas* genome. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri*, 2 (3), 411–419.
- Schmutz, J., Cannon, S.B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., Hyten, D.L., Song, Q., Thelen, J.J., Cheng, J. et al. (2010) Genome sequence of the paleopolyploid soybean. *Nature*, 463, 178–183.
- Schnable, P.S., Ware, D., Fulton, R.S., Stein, J.C., Wei, F., Pasternak, S., Liang, C., Zhang, J., Fulton, L., Graves, T.A. et al. (2009) The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 326, 1112–1115.
- Singh, R., Ong-Abdullah, M., Low, E.T.L., Manaf, M.A.A., Rosli, R., Nookiah, R., Ooi, C.L.L., Ooi, S.E., Chan, K.L., Halim, M.A. et al. (28 authors) (2013) Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and new worlds. *Nature*, 500, 335–339.
- Sujatha, M. & Mukta, N. (1996) Morphogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Jatropha curcas*. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, 44, 135–141.
- Sujatha, M., Makkar, H.P.S. & Becker, K. (2005) Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of nontoxic *Jatropha curcas* L. *Plant Growth Regulation*, 47, 83–90.
- Sujatha, M., Reddy, T.P. & Mahasi, M. (2008) Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. *Biotechnology Advances*, 26 (5), 424–435.
- Sun, F., Liu, P., Ye, J. & Lo, L.C. (2012) An approach for *Jatropha* improvement using pleiotropic QTLs regulating plant growth and seed yield. *Biotechnology for Biofuels*, 5, 42–53.
- Sunil, N., Kumar, V., Sujatha, M., Rao, G.R. & Varaprasad, K.S. (2013) Minimal descriptors for characterization and evaluation of *Jatropha curcas* L. germplasm for utilization in crop improvement. *Biomass & Bioenergy*, 48, 239–249.
- Tar, M.M., Tanya, P. & Srinives, P. (2011) Heterosis of agronomic characters in *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.). *Kasetsart Journal-Natural Science*, 45, 583–593.
- Tasma, I.M., Warsun, A., Satyawan, D., Pardal, S.J. & Slamet (2011) Genetic mapping of SSR markers in eight soybean chromosomes based on F<sub>2</sub> population B3462 × B3293. *Jurnal AgroBiogen*, 7 (2), 69–75.
- Tasma, I.M., Satyawan, D., Rijzaani, H. & Utami, D.W. (2012) *Pembentukan empat peta genetik sawit, jarak pagar, padi, dan kedelai, serta identifikasi marka SNP kakao dan sapi*. Laporan Akhir Penelitian BB Biogen 2012. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.
- Tasma, I.M. (2015) Pemanfaatan teknologi sekuensing genom untuk mempercepat program pemuliaan tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*, 34 (4), 159–168.
- Tasma, I.M. (2016a) Resekuensing genom, metode baru karakterisasi variasi SDG tanaman secara komprehensif mendukung akselerasi pemuliaan tanaman. *Warta Biogen*, 12 (1), 2–6.
- Tasma, I.M. (2016b) Pemanfaatan teknologi genomika dan transformasi genetik untuk meningkatkan produktivitas kelapa sawit. *Perspektif*, 15 (1), 51–73.
- Tasma, I.M. (2016c) Aplikasi teknologi DNA untuk akselerasi program pemuliaan ketahanan tanaman kakao terhadap hama dan penyakit utama. *Jurnal Litbang Pertanian*, 35 (4), 155–166.
- Varshney, R.K., Nayak, S.N., May, G.D. & Jackson, J.A. (2009) Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in Biotechnology*, 9, 522–530.
- Wang, C.M., Liu, P., Yi, C., Gu, K., Sun, F., Li, L., Lo, L.C., Liu, X., Feng, F., Lin, G. et al. (2011) A first generation microsatellite and SNP-based linkage map of *Jatropha*. *PLoS ONE*, 6 (8), e23632. doi: 10.1371/journal.pone.0023632.
- Wen, M., Wang, H., Xia, Z., Zou, M., Lu, C. & Wang, W. (2010) Development of EST-SSR and genomic-SSR markers to assess genetic diversity in *Jatropha curcas* L. *BMC Research Notes*, 3, 42.
- Wijaya, A., Surahman, M., Susantidiana, S. & Lakitan, B. (2014) Genetic relationships among Indonesian *Jatropha curcas* L. accessions selected, crossings, and seed oil yield of their progenies. *Chiang Mai Journal of Science*, 41 (5.1), 1109–1120.
- Wu, P., Zhou, C., Cheng, S., Wu, Z., Lu, W., Han, J., Chen, Y., Chen, Y., Ni, P., Wang, Y. et al. (2015) Integrated genome sequence and linkage map of physicnut (*Jatropha curcas* L.), a biodiesel plant. *The Plant Journal*, 81, 810–821.
- Wurdack, K.J., Hoffmann, P. & Chase, M.W. (2005) Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using plastid RBCL and TRNL-F DNA sequences. *American Journal of Botany*, 92, 1397–1420.
- Yamaguchi, S., Sun, T.P., Kawaide, H. & Kamiya, Y. (1998) The GA2 locus of *Arabidopsis thaliana* encodes entkaurene synthase of gibberellin. *Plant Physiology*, 116, 1271–1278.